

DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2023-27(2)-06

УДК: 616.53-008. 811.1

ЛІПОЛІТИЧНА АКТИВНІСТЬ MALASSEZIA SPP. НА ЗАПАЛЕНИХ ДІЛЯНКАХ ШКІРИ ПАЦІЄНТІВ ІЗ СЕБОРЕЙНИМ ДЕРМАТИТОМ ПОСИЛЮЄТЬСЯ ПІСЛЯ ВПЛИВУ БЕТА-ЕНДОРФІНУ

Височанська В. В., Коваль Г. М.

ДВНЗ "Ужгородський національний університет" (пл. Народна, 3, м. Ужгород, Україна, 88000)

Відповідальний за листування:
e-mail: iachupakabramail@gmail.com

Статтю отримано 15 лютого 2023р.; прийнято до друку 21 березня 2023р.

Анотація. Опіатна система шкіри відіграє провідну роль у модуляції запалення та регенерації, а продукти метаболізму деяких бактерій і грибів здатні порушувати цілість шкірного бар'єра та викликати запалення. Тому метою роботи було оцінити вплив бета-ендорфіну (БЕ) на ліполітичну активність (ЛА) грибів роду *Malassezia spp.*, отриманих із ділянок запалення та здорової шкіри у пацієнтів із себорейним дерматитом. Включили 42 пацієнти з середньою та важкою формою СД, з позитивним ростом *Malassezia spp.* Контроль - 17 медичних працівників без жодних шкірних захворювань. У СД пацієнтів брали 2 мазки: ділянка обличчя у місцях, де є себорейне запалення, та з неураженої шкіри в ділянці груднини. Отримані зразки перенесли на MLNA (37°C; 72 год), колонії суспендували у бульйоні Діксона і додавали 500 пто/L БЕ людського (3 дні; 32 °C). Далі 1 мл наносили на жовтковий агар (7 днів; 35 °C). Зону преципітації вважали ознакою наявності ЛА. Використані такі статистичні методи дослідження: критерій χ^2 -квадрат, t-тест Манна-Уїтні, критерій Ст'юдента. Половина *Malassezia spp.*, виділених від здорових осіб, не проявляло ЛА як до, так і після експозиції БЕ. 69% зразків, отриманих зі здорових ділянок і 95% зразків із запалених ділянок шкіри пацієнтів з СД показали ЛА. Після стимуляції БЕ всі зразки зі здорових ділянок пацієнтів з СД мали ЛА. У здорових осіб середнє значення коефіцієнта ЛА не відрізнялося достовірно після експозиції БЕ (0,99 (0,99-1,00) vs 0,95 (0,92-0,97) $p=0,358$). У пацієнтів із себорейним дерматитом інтенсивність ліполізу достовірно збільшувалась. У зразках, отриманих зі здорових ділянок, різниця в наростанні ЛА була меншою, ніж у зразків із запалених ділянок шкіри (0,06 $p \leq 0,031$; 0,22 $p \leq 0,001$). Проте при порівнянні інтенсивності ЛА у зразках зі здорових ділянок шкіри у СД пацієнтів та здорових осіб достовірної різниці не виявлено як до стимуляції БЕ, так і після (0,91 (0,86-0,95) vs 0,95 (0,92-0,97) $p=0,173$). Було встановлено, що БЕ посилює ЛА *Malassezia spp.*, які колонізують запалені ділянки шкіри пацієнтів із себорейним дерматитом. Логічним є подальше дослідження з використанням блокаторів опіоїдних рецепторів шкіри для лікування проявів себорейного дерматиту.

Ключові слова: *Malassezia spp.*, себорейний дерматит, бета-ендорфін.

Вступ

Себорейний дерматит (СД) - це хронічне захворювання шкіри, типовими симптомами якого є еритема, лущення та свербіж шкіри [28]. Власне хронічне запалення та метаболіти грибів і бактерій на шкірі можуть викликати подразнення, лущення та надмірну продукцію шкірного сала [1, 26]. Проте бета-ендорфін теж відіграє важливу роль у регуляції запалення та регенерації шкіри [2]. Кератиноцити та нервові волокна в дермі й епідермісі мають μ -опіатні рецептори. Бета-ендорфін може надходити з крові чи бути синтезованим кератиноцитами, нейтрофілами і нервовими закінченнями. Це створює поняття опіатна система шкіри та її авторегуляція [4].

Еритема та новітні дерматоскопічні симптоми кульбаби (судинний конгломерат) та сакури (арборизація судин у вигляді вузла, оточена судинами у формі ком) є типовими для СД [19]. Проліферація судин у місцях запалення пояснюється надмірним рівнем бета-ендорфіну, оскільки ендogenous опіоїди здатні модулювати ангіогенез [5]. Свербіж шкіри у СД пацієнтів пов'язують з підвищенням рівня гістаміну [24]. Проте бета-ендорфін здатен посилювати викид гістаміну з тучних клітин, що було підтверджено зникненням свербіжу після нанесення

налоксону [3].

Гриби роду *Malassezia spp.* тісно пов'язані з патогенезом СД [12]. А феномен трансформації шкірних коменсалів в агресивний патоген достеменно не вивчений [11].

Мета - оцінити вплив бета-ендорфіну на ліполітичну активність грибів роду *Malassezia spp.*, отриманих із ділянок запалення та здорової шкіри у пацієнтів із себорейним дерматитом.

Матеріали та методи

Дослідження виконували на базі Обласного медичного клінічного шкірно-венерологічного центру м. Ужгород та кафедри мікробіології, вірусології, епідеміології з курсом інфекційних хвороб медичного факультету ДВНЗ "УжНУ".

Усі пацієнти були проінформовані про методику дослідження, яка відповідає біоетичним нормам Гельсінської декларації, Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину, відповідним положенням ВООЗ та МОЗ України, а також етичним стандартам, встановленим Комітетом з біоетики ДВНЗ "Ужгородський національний університет" (протокол № 409/2-8 від

21.09.2021 р.), та підписали інформовану згоду.

Нами обстежено 168 пацієнтів із себорейним дерматитом та 30 здорових осіб. Діагноз встановлювали на основі шкірних симптомів згідно з критеріями Seborrheic Dermatitis area and severity index (SEDASI) [13], анамнезу хвороби пацієнтів та обов'язкової консультації дерматолога. До дослідження залучили 42 пацієнти з середньою та важкою формою себорейного дерматиту та позитивним ростом грибів роду *Malassezia* spp. СД ділили на легку форму, яку оцінювали 1-14 балів SEDASI, середню важкість - 15-29 балів, важку форму - 30 і більше балів. Групу контролю склали 17 медичних працівників без жодних шкірних захворювань, у яких висівалася *Malassezia* spp. Обстежених просили не вмивати обличчя ввечері та зранку перед забором взірців. Мазки із шкіри забирали ватним тампоном. У СД пацієнтів брали 2 мазки: ділянка обличчя у місцях, де є себорейне запалення, та з неуразженої шкіри в ділянці груднини. У групи контролю одним ватним тампоном натирали близько 10 разів надбрівну ділянку і складку носогубного трикутника. Отримані зразки поміщали у транспортне середовище Amies Transport with Charcoal і перенесли на чашки з *Malassezia* Leeming & Notman Agar Modified (MLNA) Kairosafe agar, культивували їх при температурі 37°C 72 години. Відібрані колонії фарбували за Грамом, суспендували в модифікованому бульйоні Діксона [17] (кількість колонієутворювальних одиниць $2,7\text{-}3,5 \times 10^3 \times \text{мл}^{-1}$). Для визначення впливу на ліполітичну активність маласезій у бульйон додавали 500 pmol/L бета-ендорфіну людського (E6164, Sigma-Aldrich) та інкубували 3 дні при 32°C. Всі зразки центрифугували та додавали 1 мл на чашки з жовтковим агаром (на 1 л: 50 гр триптон-соевого агару з екстрактом дріжджів, 0,4 гр І-цистеїну, після стерилізації та охолодження до 50°C додали 100 мл стерильної яєчної емульсії) [18]. Чашки витримували 7 днів при 35°C. Зону преципітації вважали ознакою наявності ліполітичної активності. Інтенсивність секретії ліпази вираховували як співвідношення діаметра колонії у мм до загального діаметра зони преципітації чи колонії (за відсутності ферментативної активності). Відповідно поділили: число 1 - відсутність ліполітичної активності; 0,99-0,70 - помірна активність; $\leq 0,69$ - виражена ліполітична активність.

Критерій хі-квадрат використовували для порівняння кількості зразків з ліполітичною активністю в кожній групі з контрольними зразками та для визначення

різниці в статевому розподілі. t-тест Мана-Уїтні використали для порівняння різниці у віці між групами, критерій Стьюдента - для порівняння середнього значення інтенсивності секретії фосфоліпази. Статистично достовірним вважали показник $p \leq 0,05$.

Роботу виконували в межах кафедральних тем: "Альтернативні методи лікування опортуністичних інфекцій з використанням медикаментозних та немедикаментозних засобів" (шифр теми 12А-2021, номер державної реєстрації 0121U110174) та "Здоров'я і рекреація. Особливості клініко-епідеміологічних переліків інфекцій та паразитозів, характерних для Закарпатського регіону" (шифр теми 02070832, номер державної реєстрації 0117U00283).

Результати

Середній вік 42 пацієнтів із себорейним дерматитом склав 44,2 (42-53) роки, а здорових добровольців 42,3 (38-53) ($p=0,134$). Чоловіки склали 75% у СД групі та 80% серед здорових осіб ($p=0,625$). 83% пацієнтів з СД мали 15-29 балів за шкалою SEDASI, що відповідає середній важкості, інші мали більше 30 балів, що було прийнято за важку форму.

Кількість ізолятів *Malassezia* spp., що показали ліполітичну активність, наведено в таблиці 2. Більше половини *Malassezia* spp., виділених від здорових осіб не проявляло жодної ліполітичної активності. На чашках з жовтковим агаром дві третини зразків, отриманих зі здорових ділянок шкіри та переважна більшість зразків із запалених ділянок шкіри пацієнтів з СД показали ліполітичну активність (69% ізолятів із здорової шкіри та 95% із себорейних ділянок). Після стимуляції бета-ендорфіном всі зразки, отримані зі здорових ділянок пацієнтів з СД, показали ліполітичну активність, а відсоток зразків з ліполітичною активністю, отриманих від здорових осіб, майже не змінився. Частка ізолятів із здорових ділянок осіб з себорейним дерматитом збільшилася із 69 до 98

Таблиця 1. Демографічні показники обстежуваних та розподіл по важкості проявів СД.

	СД (n=42)	Здорові (n=18)	p-value
Вік	44,2(42-53)	42,3 (38-53)	0,134
Стать (чол/жін)	18/24	8/10	0,625
Важкість СД Середня/Важка	35/7		

Таблиця 2. Частка ізолятів *Malassezia* spp. отриманих від здорових та осіб з СД, які проявляли ліполітичну активність, до та після стимуляції бета-ендорфіном.

	Жовтковий агар (ЖА)			ЖА+500 pmol/L бета-ендорфіну		
	Помірна активність	Виражена активність	Немає активності	Помірна активність	Виражена активність	Немає активності
А. Ділянки запалення у СД пацієнтів	40/42 (95%)	0	2/42 (5%)	24/42 (57%)	18/42 (43%)	0
В. Здорові ділянки у СД пацієнтів	29/42 (69%)	0	13/42 (31%)	41/42 (98%)	1/42 (2%)	0
С. Здорові особи (контроль)	7/18 (39%)	0	11/18 (61%)	8/18 (44%)	0	10/18 (56%)

Таблиця 3. Інтенсивність ліполізу *Malassezia spp.*, виділених від пацієнтів із себорейним дерматитом та здорових осіб до та після стимуляції бета-ендорфіном.

	Жовтковий агар (ЖА)	ЖА+500 nmol/L бета-ендорфіну	P value, Student's t test
A. Ділянки запалення у СД пацієнтів	0,94 (0,92-0,97)	0,72 (0,52-0,83)	≤0,001
B. Здорові ділянки у СД пацієнтів	0,97 (0,94-0,99)	0,91 (0,86-0,95)	0,031
C. Здорові особи (контроль)	0,99 (0,99-1,00)	0,95 (0,92-0,97)	0,358
P value, chi-square test A vs B	0,571	≤0,001	
B vs C	0,764	0,173	

Примітка: * - інтенсивність ліполізу представлена як середнє значення відношення діаметра колонії до діаметра ділянки преципітації; у дужках показано мінімальне та максимальне значення.

відсотків. Частка ізолятів з ліполітичною активністю від здорових осіб склала 44% після стимуляції бета ендорфіном у порівнянні з 39% до стимуляції.

Інтенсивність ліполітичної активності представлена в таблиці 3. У здорових осіб середнє значення коефіцієнта ліполітичної активності не відрізнялося достовірно до та після експозиції бета-ендорфіном ($p \leq 0,358$). У пацієнтів із себорейним дерматитом інтенсивність ліполізу достовірно збільшувалась. У зразках, отриманих зі здорових ділянок, різниця в наростанні ліполітичної активності була меншою, ніж у зразків із запалених ділянок шкіри (0,06, $p \leq 0,031$; 0,22, $p \leq 0,001$). Проте при порівнянні інтенсивності ліполізу в зразках зі здорових ділянок шкіри у СД пацієнтів та здорових осіб достовірно різниці не виявлено як до стимуляції бета-ендорфіном, так і після (до бета ендорфіну 0,97 vs 0,99 $p \leq 0,764$; після бета-ендорфіну 0,91 vs 0,95 $p \leq 0,173$).

Обговорення

У пропонованому дослідженні описано посилення ліполітичної активності майже всіх ізолятів з групи СД після впливу людського бета-ендорфіну порівняно з групою контролю. Отримані результати є подібними до дослідження Nappova, де досліджували штами *Malassezia spp.*, виділених від СД та здорових осіб. Показано, що *M. globosa*, *M. restricta*, взяті з запалених ділянок шкіри, виявляли вищу фосфолітичну активність субстрату Лемінга-Нотмана, виміряну колориметричним методом, ніж отримані з інтактних ділянок у пацієнтів з СД [9].

Геном *M. globosa* має шість генів, що кодують фосфоліпазу С та В [30]. Також описано наявність генів ліпази у штаммах *M. pachydermatis* [23], *M. globosa* [10], *M. restricta* [21]. Ліпазу, фосфоліпазу, пептидазу й аспартилпротеазу вважають основними факторами вірулентності *Malassezia spp.* [29]. *M. sympodialis*, виділена від пацієнтів із різнокольоровим лишаєм, показала вищу активність фосфоліпази, ніж штами, отримані від здорових контрольних осіб [16]. Виникнення патогенних підтипів з посиленою ліполітичною активністю було описано в *M. furfur*, *M. globosa* та *M. restricta* на основі молекулярного типування [7]. Це дослідження було виконано з використанням чашок з жовтковим агаром. Очевидно, такий метод не може точно виміряти інтенсивність ліполізу, оскільки зона білого осаду навколо

зони преципітації ускладнює точний вимір міліметровою лінійкою. Також натуральний яєчний жовток має безліч ліпідів та протеїнів, тому неможливо визначити, який саме фермент виділявся сильніше. Дослідження демонструє тенденцію у динаміці змін метаболізму *Malassezia*.

Описано, що гриби *Malassezia spp.* мають μ -опіатні рецептори [6]. А шкіра здатна синтезувати бета-ендорфін для регуляції функції кератиноцитів, нервових закінчень та макрофагів [32]. Деякими авторами описано, що концентрація бета-ендорфіну в сироватці та шкірі збільшується при псоріазі та atopічному дерматиті [20]. Водночас встановлено патогенний зв'язок між бета-ендорфіно-опосередкованим стресом та акне [8]. Також нами вперше було виміряно підвищений рівень бета-ендорфіну у пацієнтів із себорейним дерматитом [25].

Відомо, що порушення цілісності шкіри, зміни в кількісному складі резидентів мікробіоти, нейрогенні та гуморальні порушення пов'язані з виникненням себорейного дерматиту [1]. Запалення шкіри веде до викиду бета-ендорфіну для посилення імунної відповіді та загоєння [31]. Ми пропонуємо гіпотезу, що хронічне запалення знижує чутливість дозозалежних опіодних рецепторів. Тому виникає необхідність у збільшенні синтезу бета-ендорфіну, що посилює викид ферментів резидентами мікробіому шкіри та переводить їх з ролі коменсалів у патогени. До прикладу, *Propionibacterium acnes* є переважачим видом у пацієнтів із себорейним дерматитом [22]. Вивчення ліпази цих бактерій показало, що її показники не тільки значно підвищені при вугровій хворобі, а й при себорейному дерматиті [15]. А метаболіти, які утворюються внаслідок ліполітичної активності *Malassezia spp.*, можуть порушувати диференціацію епітеліальних клітин, викликати дефекти шкірного бар'єру [27] та знижувати локальну імунну відповідь [14].

Описано, що у пацієнтів з СД бета-ендорфін у крові вищий, ніж у здорових осіб, а його кількість корелює з важкістю проявів на шкірі [25]. Аби ствержувати про безпосередній вплив бета-ендорфіну на мікробіом шкіри, необхідно провести вимірювання його рівня в біоптатах шкіри пацієнтів та здорових осіб для контролю. Але такі результати дають краще розуміння перетворення резидентів шкірного мікробіому у патогени.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Було встановлено, що бета-ендорфін посилює ліполітичну активність *Malassezia spp.*, які колонізують запалені ділянки шкіри пацієнтів із себорейним дерматитом.

2. Після експозиції високими дозами бета-ендорфіну коменсали *Malassezia spp.*, які населяють незапалену

шкіру пацієнтів з СД стають патогенними і проявляють ліполітичні властивості. Проте інтенсивність виділення ферментів є невисокою, оскільки немає достовірної різниці з показниками від зразків, взятих від здорових осіб.

Логічним є подальше дослідження з використанням блокаторів опіоїдних рецепторів шкіри для лікування проявів себорейного дерматиту.

Список посилань - References

- [1] Adalsteinsson, J. A., Kaushik, S., Muzumdar, S., Guttman-Yassky, E., & Ungar, J. (2020). An update on the microbiology, immunology and genetics of seborrheic dermatitis. *Experimental dermatology*, 29(5), 481-489. <https://doi.org/10.1111/exd.14091>
- [2] Bigliardi, P. L., Dancik, Y., Neumann, C., & Bigliardi-Qi, M. (2016). Opioids and skin homeostasis, regeneration and ageing - What's the evidence? *Experimental dermatology*, 25(8), 586-591. <https://doi.org/10.1111/exd.13021>
- [3] Bigliardi-Qi, M., Lipp, B., Sumanovski, L. T., Buechner, S. A., & Bigliardi, P. L. (2005). Changes of epidermal mu-opiate receptor expression and nerve endings in chronic atopic dermatitis. *Dermatology* (Basel, Switzerland), 210(2), 91-99. <https://doi.org/10.1159/000082563>
- [4] Bigliardi-Qi, M., Sumanovski, L. T., Buchner, S., Ruffli, T., & Bigliardi, P. L. (2004). Mu-opiate receptor and Beta-endorphin expression in nerve endings and keratinocytes in human skin. *Dermatology* (Basel, Switzerland), 209(3), 183-189. <https://doi.org/10.1159/000079887>
- [5] Blebea, J., Mazo, J. E., Kihara, T. K., Vu, J. H., McLaughlin, P. J., Atnip, R. G., & Zagon, I. S. (2000). Opioid growth factor modulates angiogenesis. *Journal of vascular surgery*, 32(2), 364-373. <https://doi.org/10.1067/mva.2000.107763b>
- [6] Cafarchia, C., Dell'Aquila, M. E., Traversa, D., Albrizio, M., Guaricci, A. C., de Santis, T., & Otranto, D. (2010). Expression of the micro-opioid receptor on *Malassezia pachydermatis* and its effect in modulating phospholipase production. *Medical mycology*, 48(1), 73-78. <https://doi.org/10.3109/13693780902718347>
- [7] Cho, Y. J., Kim, T., Croll, D., Park, M., Kim, D., Keum, H. L., Sul, W. J., & Jung, W. H. (2022). Genome of *Malassezia arunalokei* and Its Distribution on Facial Skin. *Microbiology spectrum*, 10(3), e0050622. <https://doi.org/10.1128/spectrum.00506-22>
- [8] Clayton, R. W., Langan, E. A., Ansell, D. M., de Vos, I. J. H. M., G?bel, K., Schneider, ... & Paus, R. (2020). Neuroendocrinology and neurobiology of sebaceous glands. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 95(3), 592-624. <https://doi.org/10.1111/brv.12579>
- [9] Honnavar, P., Chakrabarti, A., Prasad, G. S., Singh, P., Dogra, S., & Rudramurthy, S. M. (2017). β -Endorphin enhances the phospholipase activity of the dandruff causing fungi *Malassezia globosa* and *Malassezia restricta*. *Medical mycology*, 55(2), 150-154. <https://doi.org/10.1093/mmy/myw058>
- [10] Juntachai, W., Oura, T., & Kajiwara, S. (2011). Purification and characterization of a secretory lipolytic enzyme, MgLIP2, from *Malassezia globosa*. *Microbiology* (Reading, England), 157(Pt 12), 3492-3499. <https://doi.org/10.1099/mic.0.054528-0>
- [11] Kurniadi, I., Hendra Wijaya, W., & Timotius, K. H. (2022). *Malassezia* virulence factors and their role in dermatological disorders. *Acta dermatovenerologica Alpina, Pannonica, et Adriatica*, 31(2), 65-70.
- [12] Li, J., Feng, Y., Liu, C., Yang, Z., de Hoog, S., Qu, Y., ... & Shi, D. (2022). Presence of *Malassezia* Hyphae Is Correlated with Pathogenesis of Seborrheic Dermatitis. *Microbiology spectrum*, 10(1), e0116921. <https://doi.org/10.1128/spectrum.01169-21>
- [13] Micali, G., Lacarrubba F., & Tedeschi A. (2017). A new proposed severity score for seborrheic dermatitis of the face: SEborrheic Dermatitis Area and Severity Index (SEDASI). *Journal of the American academy of dermatology*, 76(6, 1), AB18. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2017.04.088>
- [14] Moreira, R. T. F., Lallo, M. A., Alvares-Saraiva, A. M., Hurtado, E. C. P., Konno, F. T., Spadacci-Morena, D., & Coutinho, S. D. A. (2018). Dichotomous response of *Malassezia*-infected macrophages to *Malassezia pachydermatis* and *Malassezia furfur*. *Medical mycology*, 10.1093/mmy/myy104. <https://doi.org/10.1093/mmy/myy104>
- [15] Nakase, K., Momose, M., Yukawa, T., & Nakaminami, H. (2022). Development of skin sebum medium and inhibition of lipase activity in *Cutibacterium acnes* by oleic acid. *Access microbiology*, 4(10), acmi000397. <https://doi.org/10.1099/acmi.0.000397>
- [16] Pini, G., & Faggi, E. (2011). Extracellular phospholipase activity of *Malassezia* strains isolated from individuals with and without dermatological disease. *Revista iberoamericana de dermatologia*, 28(4), 179-182. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2011.05.002>
- [17] Poh, S. E., Goh, J. P. Z., Fan, C., Chua, W., Gan, S. Q., Lim, P. L. K., ... & Li, H. (2020). Identification of *Malassezia furfur* Secreted Aspartyl Protease 1 (MfSAP1) and Its Role in Extracellular Matrix Degradation. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 10, 148. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00148>
- [18] Price, M. F., Wilkinson, I. D., & Gentry, L. O. (1982). Plate method for detection of phospholipase activity in *Candida albicans*. *Sabouraudia*, 20(1), 7-14. <https://doi.org/10.1080/00362178285380031>
- [19] Ruiz-Arriaga, L. F., Arenas, R., Vega-S?nchez, D. C., Asz-Sigall, D., & Martinez-Velazco, M. A. (2019). Seborrheic Dermatitis: Three Novel Trichoscopic Signs and Its Correlation to *Malassezia* sp. Colonization. *Skin appendage disorders*, 5(5), 288-292. <https://doi.org/10.1159/000497782>
- [20] Slominski, A. T., Zmijewski, M. A., Zbytek, B., Tobin, D. J., Theoharides, T. C., & Rivier, J. (2013). Key role of CRF in the skin stress response system. *Endocrine reviews*, 34(6), 827-884. <https://doi.org/10.1210/er.2012-1092>
- [21] Sommer, B., Overy, D. P., & Kerr, R. G. (2015). Identification and characterization of lipases from *Malassezia restricta*, a causative agent of dandruff. *FEMS yeast research*, 15(7), fov078. <https://doi.org/10.1093/femsyr/fov078>
- [22] Tao, R., Wang, R., Wan, Z., Song, Y., Wu, Y., & Li, R. (2022). Ketoconazole 2% cream alters the skin fungal microbiome in seborrheic dermatitis: a cohort study. *Clinical and experimental dermatology*, 47(6), 1088-1096. <https://doi.org/10.1111/ced.15115>
- [23] Teramoto, H., Kumeda, Y., Yokoigawa, K., Hosomi, K., Kozaki, S., Mukamoto, M., & Kohda, T. (2015). Genotyping and characterisation of the secretory lipolytic enzymes of *Malassezia pachydermatis* isolates collected from dogs.

- Veterinary record open*, 2(2), e000124. <https://doi.org/10.1136/vetreco-2015-000124>
- [24] Vazquez-Herrera, N. E., Sharma, D., Aleid, N. M., & Tosti, A. (2018). Scalp Itch: A Systematic Review. *Skin appendage disorders*, 4(3), 187-199. <https://doi.org/10.1159/000484354>
- [25] Vysochanska, V. (2022). Plasma lever of beta endorphine in patients with methabolic syndrome and seborrheic dermatitis. *Achievements of Clinical and Experimental Medicine*, 4, 75-82. DOI: 10.11603/1811-2471.2022.v.i4.13500
- [26] Vysochanska, V. V., & Koval, G. M. (2022). The Role of Genes and Skin Microbiome in the Development of Seborrheic Dermatitis. *Ukrainian Journal of Medicine, Biology and Sport*, 7(2), 18-26. <https://doi.org/10.26693/jmbs07.02.018>
- [27] Warner, R. R., Schwartz, J. R., Boissy, Y., & Dawson, T. L., Jr. (2001). Dandruff has an altered stratum corneum ultrastructure that is improved with zinc pyrithione shampoo. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 45(6), 897-903. <https://doi.org/10.1067/mjd.2001.117849>
- [28] Wikramanayake, T. C., Borda, L. J., Miteva, M., & Paus, R. (2019). Seborrheic dermatitis-Looking beyond *Malassezia*. *Experimental dermatology*, 28(9), 991-1001. <https://doi.org/10.1111/exd.14006>
- [29] Wu, G., Zhao, H., Li, C., Rajapakse, M. P., Wong, W. C., Xu, J., ... & Dawson, T. L., Jr. (2015). Genus-Wide Comparative Genomics of *Malassezia* Delineates Its Phylogeny, Physiology, and Niche Adaptation on Human Skin. *PLoS genetics*, 11(11), e1005614. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005614>
- [30] Xu, J., Saunders, C. W., Hu, P., Grant, R. A., Boekhout, T., Kuramae, E. E., ... Dawson, T. L., Jr. (2007). Dandruff-associated *Malassezia* genomes reveal convergent and divergent virulence traits shared with plant and human fungal pathogens. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(47), 18730-18735. <https://doi.org/10.1073/pnas.0706756104>
- [31] Yang, D. J., Moh, S. H., Choi, Y. H., & Kim, K. W. (2020). β -Neoeendorphin Enhances Wound Healing by Promoting Cell Migration in Keratinocyte. *Molecules* (Basel, Switzerland), 25(20), 4640. <https://doi.org/10.3390/molecules25204640>
- [32] Yardman-Frank, J. M., & Fisher, D. E. (2021). Skin pigmentation and its control: From ultraviolet radiation to stem cells. *Experimental dermatology*, 30(4), 560-571. <https://doi.org/10.1111/exd.14260>

LIPOLYTIC ACTIVITY OF MALASSEZIA SPP. ON INFLAMED SEBORRHEIC AREAS INCREASES AFTER EXPOSURE TO BETA-ENDORPHIN

Vysochanska V. V., Koval G. M.

Annotation. The opiate system of the skin modulates inflammation and regeneration, while metabolic products of some bacteria and fungi disrupt the skin barrier and cause inflammation. Therefore, the study aimed to evaluate the effect of beta-endorphin (BE) on the lipolytic activity (LA) of *Malassezia* spp. isolated from both seborrheic areas and healthy skin of patients with seborrheic dermatitis. The study included 42 patients with moderate and severe forms of SD, with positive growth of *Malassezia* spp., and 17 medical workers without any skin diseases constituting the control group. Two smears were taken from the SD patients: from the face, specifically inflamed areas affected by SD, and intact skin of the sternum. Samples were transferred to MLNA (37°C; 72 h), colonies were suspended in Dixon broth, and 500 nmol/L human BE was added (3 days; 32 °C). 1 ml of the suspension was then applied to yolk agar (7 days; 35°C). The precipitation zone was considered a sign of the presence of LA. The following statistical research methods were used: chi-square test, Mann-Whitney t-test, and Student's test. Half of the *Malassezia* spp. isolated from healthy individuals did not show any LA before and after BE exposure. 69% of samples obtained from healthy areas and 95% of samples from inflamed skin areas from SD patients had LA. After BE stimulation, all samples from healthy areas of SD patients had LA. In healthy individuals, the average value of the LA did not show a significant difference after BE exposure (0.99 (0.99-1.00) vs 0.95 (0.92-0.97) $p=0.358$). In patients with SD, the intensity of lipolysis significantly increased. In samples obtained from healthy areas, the difference in LA was smaller than in samples from inflamed skin areas (0.06 $p\leq 0.031$; 0.22 $p\leq 0.001$). However, when comparing the intensity of LA in samples from healthy areas of SD patients and healthy individuals, no significant difference was found either before or after BE stimulation (0.91 (0.86-0.95) vs 0.95 (0.92-0.97) $p=0.173$). It was established that BE increases the LA of *Malassezia* spp., which colonizes the inflamed skin areas of patients with SD. Further research using opioid receptor blockers for the treatment of seborrheic dermatitis would be a logical next step.

Keywords: *Malassezia* spp, seborrheic dermatitis, beta-endorphin.